

неселективной среде методами детектирования цекропина P1 в растительных экстрактах основанными на его иммуноферментном анализе и антибактериальной активности. Эффективность выявления трансформированных регенерантов составляет около 2 %. Полученные нами *cecP1* – растения рапса синтезировали цекропин P1 на среднем уровне около 0.005 % от общего растворимого белка клетки. Таким образом, ген *cec P1* можно использовать одновременно в качестве целевого гена и скринингового маркера. Полученные безмаркерные трансгенные растения, экспрессирующие синтетический ген цекропина P1, проявляют значительное повышение устойчивости к микробным фитопатогенам – бактериям *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* и грибам *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora infestans*.

Проведено исследование экологической безопасности полученных растений. Известно, что растения состоят в тесной ассоциации с различными полезными колонизирующими микроорганизмами. Трансгенные растения рапса с геном цекропина сохраняли свою способность к колонизации полезными ассоциативными микроорганизмами – *Methylovorus mays* и *Pseudomonas aureofaciens*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-08-00406 и № 10-04-00037.

Библиографический список

1. Angenon G., Dillen W., van Montagu M. Antibiotic-Resistance Markers for Plant Transformation // Plant Molecular Biology Manual // Eds. Gelvin S.B., Schilperoort R.A. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. 1994. C1. P. 1-13.
2. Hare P.D., Chua N-H. Excision of selectable marker genes from transgenic plants // Nat Biotechnol. 2002. V. 20. P. 113-122.
3. Martemyanov K.A., Spirin A.S., Gudkov A.T. Synthesis, cloning and expression of genes for antibacterial peptides: cecropin, magainin, and bombinin // Biotechnology Lett. 1996. V. 18. P. 1357-1362.

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КОКУШНИКА ДЛИННОРОГОВОГО «IN VITRO» НА СТАДИИ РАЗВИТИЯ ПРОТОКОРМА

Л.А. Крюков, А.И. Широков

Нижегородский Государственный Университет им. Н.И. Лобачевского,
E-mail: LavrKryukov@gmail.com

Орхидные (*Orchidaceae* Lindl.) – одно из самых многочисленных семейств среди цветковых растений. Сложные биоэкологические особенности и активное антропогенное воздействие на среду обитания привело к отнесению большинства видов этого семейства к категории редких и исчезающих. Необходимо создание эффективных методов для размножения орхидных и восстановления численности нарушенных популяций.

Согласно современным представлениям о начальных стадиях развития орхидных (Rasmussen, 1995) естественный процесс онтоморфогенеза можно разделить на следующие стадии: семя > протокорм > первичный корнепобег и т.д. В литературе широко обсуждается, с одной стороны, вопрос о слабой способности корневищных орхидных в природных популяциях к вегетативному размножению (Татаренко, 1996), а с другой – способность активного размножения протокормов практически всех орхидных *in vitro* (Rasmussen, 1995).

Объектом исследования стал редкий вид флоры Нижегородской области *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br. (кокушник длиннорогий), который включен в Красную Книгу Нижегородской области. Целью работы являлось выявление естественного потенциала вегетативного размножения *Gymnadenia conopsea in vitro* на стадии развития протокорма под воздействием фитогормонов. Ставились следующие задачи: 1) Определение оптимальных фитогормональных условий вегетативного размножения протокормов; 2) Выявление максимального эффекта вегетативного размножения протокормов.

Для экспериментов использовались стерильные протокормы *Gymnadenia conopsea*, полученные *in vitro* после посева семян, собранных в естественных условиях на территории Нижегородской области. При проведении исследований использовалась агаризованная питательная среда, предложенная С. Мальмгрен (Malmgren, 1996). Было приготовлено 9 вариантов питательных сред со следующим соотношением ауксина и цитокинина (ИМК:6-БАП) – 1:1, 1:3, 1:5, 3:1, 3:3, 3:5, 5:1, 5:3, 5:5 мг/л, по 5 колб с каждой из сред. В колбы помещалось по 3 протокорма. Затем они содержались на стеллаже с подсветкой. В качестве контроля использовались базовая среда Malmgren.

Основываясь на полученных данных, можно констатировать, что максимальный эффект вегетативного размножения наблюдается на питательной среде с равным содержанием ауксина и цитокинина в количестве по 1 мг/л, при этом развитие растения идет без морфологических отклонений, как при преобладании одного из гормонов, и с образованием вторичных протокормо подобных тел (по-видимому, подобные закономерности можно наблюдать и в природных популяциях, так как подобный гормональный фон может формироваться в ризосфере материнских растений в результате прижизненных выделений апексов корней, деятельности ИУК-синтезирующих бактерий и т.д.). Таким образом, в течении относительно непродолжительного периода времени возможно получение значительного количества растений, что поможет восстанавливать нарушенные популяции, даст материал для коллекционеров и исследователей.

Библиографический список

1. Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М.:Аргус, 1996. 208 с.
2. Malmgren S. Orchid propagation: theory and practice. North American Native

Terrestrial Orchids “Propagation and Production” Conference proceeding. Washington, 1996. P. 63-71.

3. *Rasmussen H.N.* Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. 433 p.

СТИМУЛЯЦИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ СТЕРОИДНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ

С.Ю.Максимовских

*Региональный центр государственного экологического контроля и мониторинга объектов
по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области, kurgan-
rc@yandex.ru*

В современном производстве продовольствия огромное значение имеет поиск новых экологически безопасных методов, способов и средств защиты растений от биотических и абиотических факторов. Одним из направлений является применение препаратов группы стероидных гликозидов, которые являются вторичными метаболитами в растительной и животной клетке, участвуя в гормональной регуляции организма, повышая устойчивость и выносливость к стрессовым факторам среды и фитопатогенам. Стероидные гликозиды – это биологически активные соединения, агликоны которых (сапогенины) представляют собой C_{27} стероиды с циклопентанопергидрофенантроновым скелетом и боковой цепью у C_{17} атома (Абубакиров, 1986; Комов, 2004). При изучении действия стероидных гликозидов на различные виды грибов и микроорганизмов, была обнаружена их высокая способность ингибировать рост и развитие фитопатогенов (Васильева, 2000).

Нами были испытаны дозы и сроки применения препаратов группы стероидных гликозидов – капсикозид, томатозид, туберозид и пурпуреагитозид. Объектом исследований были различные биотипы *Medicago sativa*, *Triticum aestivum*, *Hordeum sativum*, *Zea mays*, *Solanum tuberosum*. Установлен ярко выраженный физиологический аспект действия препаратов группы стероидных гликозидов на рост и развитие растений. Фунгицидная активность гликозидов обусловлена связью со стеринами, находящимися в мембранах грибных клеток, в результате чего происходит торможение развития грибов (Кинтя и др., 1987). Данные показывают, что фитопатогенные грибы обнаруживают различную степень чувствительности к действию стероидных гликозидов, но не один из них не является полностью устойчивым. Способность данных соединений в очень малых концентрациях (10^{-6} - 10^{-7}) повышать устойчивость и продуктивность культур, не влиять отрицательно на флору и фауну, не накапливаться в почве и в атмосфере, характеризует эти препараты